

## 基于 SSR 标记的贵州薏苡种质资源遗传多样性分析

郭银萍<sup>1</sup>, 彭忠华<sup>1</sup>, 赵致<sup>1</sup>, 陈志兴<sup>2</sup>, 高翔<sup>3</sup>, 刘胜传<sup>4</sup>, 谢云<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>贵州大学农学院, 贵阳 550025; <sup>2</sup>黔西南州农业局, 兴义 570001; <sup>3</sup>贵州省农业科学院, 贵阳 550025; <sup>4</sup>贵州省兴义市兴仁县烟草公司, 兴仁 562300)

**摘要:**利用 SSR 标记研究了 22 份薏苡种质的遗传多样性, 用 11 对扩增带型稳定的 SSR 引物从供试材料中检测出 105 个等位基因变异, 每对引物检测等位基因 4~20 个, 平均 9.55 个。SSR 引物的 PIC 介于 0.3048~0.9238, 平均多态性信息量为 0.8255。利用 UPGMA 聚类分系法将供试自交系划分为 4 类, 该划分结果与根据地理来源、种质系谱的分类结果基本一致。SSR 分子标记辅助的种质改良是薏苡品种改良的重要途径。

**关键词:**薏苡; 种质; 遗传多样性; SSR

## Genetic Diversity Analysis of Jobs Tears Germplasm Resources by SSR Markers in Guizhou Province

GUO Yin-ping<sup>1</sup>, PENG Zhong-hua<sup>1</sup>, ZHAO Zhi<sup>1</sup>, CHEN Zhi-xing<sup>2</sup>, GAO Xiang<sup>3</sup>, LIU Sheng-chuan<sup>4</sup>, XIE Yun<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Agricultural College, Guizhou University, Guiyang 550025; <sup>2</sup>Institute of Qiannan Agricultural, Xingyi 570001;

<sup>3</sup>Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang 550006; <sup>4</sup>Tobacco Branch of Xingren County, Xingren 562300)

**Abstract:** The genetic diversity of 22 Jobs tears germplasm were studied by simple sequence repeats (SSR) markers. 11 SSR primers giving stable amplified band pattern detected 105 alleles among the lines tested. The average number of alleles per SSR locus were 9.55 with a range from 4 to 20. The value of polymorphism information content (PIC) for each SSR locus varied from 0.3048 to 0.9238 with average of 0.8255. The 22 germplasm were divided into 4 groups by UPGMA method based on SSR fingerprinting. The clustered results were similar to that based on geographical resource and germplasmic genealogy. SSR marker could be an accurate and reliable method to study diversity of Jobs tears germplasm. SSR marker assisted genetic improvement of Jobs tears germplasm would be an important way to breed new Jobs tears cultivars.

**Key words:** Jobs tears; Germplasm; Genetic diversity; SSR

薏苡 [*Coix lachryma-jobi* (L.) var. *frumentacea* Makino] 属禾本科植物, 一年生或多年生草本植物, 又名薏苡仁或薏仁米, 俗称“药玉米”、“回回米”、“六谷米”等。在我国大部分地区均有种植, 主产于福建、河北、辽宁等地。薏苡也是贵州省的特色农作物。薏苡全身都是宝, 其子实、根、茎、叶, 人类都可以利用。薏仁米的营养价值、药用价值都是其他植物所不能比的, 其在禾本科植物中独占鳌头, 因此, 被誉为“世界

禾本科植物之王”<sup>[1-4]</sup>。其药用成分主要是薏苡仁醋, 含量约 0.2%, 对许多病症有明显疗效; 并有抗癌、治疗扁平疣之良效, 故成为常用中药材。薏仁米的营养成分比较全面, 其中含脂质 7.6%, 是稻米的 18 倍, 且油中多为不饱和脂肪酸; 含蛋白质 17.6%, 比稻米高出 1.28 倍, 并含有 18 种氨基酸; 淀粉含量 62.4%, 相当于普通杂交玉米含量; 同时还含有钙、磷、铁等多种微量元素及维生素 B、E 等。其可作食用, 具有消

收稿日期: 2011-03-29 修回日期: 2011-11-07

基金项目: 贵州省年度攻关项目(黔科合 NY 字[2008]3034 号)

作者简介: 郭银萍, 在读硕士, 研究方向: 种质资源创新。E-mail: guoyinping1985@163.com

通讯作者: 彭忠华, 教授。E-mail: pzh-1215@163.com

食、利尿、降血糖、镇痛、消肿、润肤、美容、除疲劳、防高血压等功效,被誉为“米中之王”。此外,它的秸秆粉碎后经糖化、盐化处理可饲喂牛、马等大牲畜,果实加工后之糠是喂养畜禽的好饲料<sup>[5-7]</sup>。

薏苡抗逆性强,耐瘠性好,耐粗放栽培,惯于陡坡荒地种植,但由于缺乏优良品种,一般产量为40~70kg/667m<sup>2</sup>,严重制约其发展。目前国内对薏苡开发利用极为重视,主要应用于医药保健研究领域。在分子标记领域特别是遗传多样性方面还很少报道。本试验将利用成熟的SSR分子标记技术对22份薏苡种质进行遗传多样性分析,从而提高薏苡杂交组配的科学性、提高育种效率和育种水平、为薏苡种质改良利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为22份薏苡种质材料,由贵州大学农学院玉米研究所提供(表1)。

表1 供试薏苡的名称及编号

Table 1 Name and number of Barley rice germplasm in the study

编号 No.	名称 Name	粒色 Color	编号 No.	名称 Name	粒色 Color
1	WC1 白	白	12	PY1 黑	黑
2	YL1 黑	黑	13	XY1 白	白
3	WC2 黑	黑	14	GX1 白	白
4	PY1 白	白	15	WCH 黑	黑
5	XY1 黑	黑	16	XT1 黑	黑
6	GX1 黑	黑	17	XT2 黑	黑
7	Wch 白	白	18	XT3 黑	黑
8	XT1 白	白	19	薏测	白
9	WC1 黑	黑	20	XT2 白	白
10	YL1 白	白	21	XT3 白	白
11	WC2 白	白	22	薏 2006489	白

### 1.2 方法

**1.2.1 DNA的提取** 各供试材料取5~10粒于恒温培养箱中培养10d左右,取2g新鲜嫩叶在研钵中研磨,采用改良的CTAB法提取样品DNA<sup>[8-11]</sup>。或者直接去掉外壳的种子与液氮混合研磨,采用改良的CTAB法提取样品DNA。其中提取到的上清液再次离心(为去除吸取上清液时所吸取到的不必要的杂质及异戊醇),获得的上

清液加入到1.5ml的离心管(含有2倍体积的提前预冷过的-20℃无水乙醇)中。获得的DNA用紫外分光光度计UV2000检测样品DNA浓度和质量。再用超纯水将DNA浓度稀释至50ng/μl,-20℃保存备用。

**1.2.2 SSR扩增、电泳及银染** 引物:玉米SSR引物序列信息来自MaizeDB(<http://www.agron.missouri.edu>)或MaizeGDB(<http://www.maizegdb.org>)<sup>[9]</sup>,引物由上海捷瑞公司合成,从玉米的85对SSR引物中共筛选出5对扩增条带清晰稳定的SSR引物。水稻的72对引物为美国Cornell大学开发的RM系列,由上海生工合成。PCR反应体系:使用PTC-100扩增仪。采用10μl反应体系各药剂的用量体积及浓度见表2。反应体系在PTC-100扩增仪上进行扩增反应:94℃预变性5min;94℃变性40s;X℃退火35s;(X℃退火,具体退火温度参考引物T<sub>m</sub>值);72℃延伸45s;35个循环;72℃延伸7min。4℃保存。电泳与显影:采用10%非变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,然后通过固定、银染、漂洗和显影等步骤进行显带<sup>[12-15]</sup>然后保存,照相。

表2 10μl反应体系

Table 2 Reaction of 10μl

试剂 Reagent	初始浓度 Initial concentration	体积配比 Reagent proportion	终浓度 final concentration
ddH <sub>2</sub> O	-	3.3μl	-
10×buffer	10×buffer	1.0μl	1×buffer
MgCl <sub>2</sub>	25mmol/L	1.2μl	3.0mmol/L
dNTP	10mmol/L	0.25μl	0.25mmol/L
Taq 酶	2.5U/μl	0.25μl	0.0625U/μl
引物	2.5umol/μl	上下各1.25μl	各0.3125μmol/μl
DNA	50ng/μl	1.5μl	7.5ng/μl

**1.2.3 统计分析** 统计分析是以SSR扩增产物结果为依据,有带记为1、无带记为0、缺失或带弱记为9,统计谱带建立数据库。按UPGMA(Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Average)方法,利用软件DPS v7.05版和NTSYS-pc2.10e分析软件进行数据聚类,获得系统聚类图;以简单配对参数(Simple matching coefficient)估计基因频率,SSR位点的多态性信息量(Polymorphism information content, PIC)按公式 $PIC = 1 - \sum f_i^2$ (其 $f_i$ 为i位点的基因频率)计算,材料之间的遗传相似系数变化范围(Genetic Similarity, GS)

按  $GS = m / (m + n)$  (其中  $m$  为基因型间共有带数目,  $n$  为差异带数目) 计算, 遗传距离 (Genetic Distance, GD) 按公式  $GD = 1 - GS$  计算<sup>[16-18]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 标记分析

因为薏苡属小作物, 从而没有相应的引物, 但为了研究其遗传多样性从而区分其亲缘关系, 只能试图从与之亲缘关系较近的禾本科作物玉米和水稻中

筛选。从玉米的 85 对随机引物和水稻的 72 对随机引物中分别筛选出了 5 对和 6 对共计 11 对多态性较好的随机引物进行 SSR 分析, 在供试材料中, 从 11 对多态性好的引物中共检测到 105 个等位基因变异, 平均每个位点检测到的等位基因数为 9.55 个, 变化范围为 4~16 个。每个 SSR 位点的  $PIC$  为 0.6312~0.9138, 平均 0.8255, 其中引物 RM5336 位点的  $PIC$  最大为 0.9138, Umc1741 位点最小为 0.6312 (图 1、表 3)



图 1 引物 RM5336 在 22 个薏苡种质中的扩增结果

Fig. 1 DNA fingerprints of 22 Jobs tears germplasm using SSR primer RM5336

表 3 22 个薏苡种质 SSR 检测的等位基因数及多态信息量  
Table 3 SSR primers, the number of alleles and  $PIC$  value amplified in 22 Jobs tears germplasm

编号 No.	引物 Primer	染色体位置 Genomic location	等位基因 数 Alleles	多态性信息 量 $PIC$
1	Bnlg1306	5.07	15	0.8681
2	Bnlg1246	5.05 3.05 8.05 6.01	9	0.8601
3	Bnlg1538	6.01	15	0.8646
4	Phi024	5.01	10	0.7750
5	Umc1741	8.03	4	0.6312
6	RM3426	1.4	6	0.8615
7	RM5336	1.3	16	0.9138
8	RM1167	1.4	11	0.8423
9	RM1201	1.7	6	0.7973
10	RM1151	1.9	5	0.8400
11	RM1321	1.3	8	0.8271
平均 Mean			9.55	0.8255

### 2.2 种质间的遗传差异

根据 SSR 标记数据计算薏苡种质的 SSR 遗传

相似系数 ( $G_s$ ), 其变幅为 0.3048~0.9238, 平均  $G_s$  值为 0.7799。其中材料 WC2 黑与 YL1 黑的遗传相似系数最高, 为 0.9238; 材料 XT3 白与 YL1 白的遗传相似系数最低, 为 0.3048; 材料 XT3 白与其他各种质间的平均遗传相似系数 (0.3923) 小于其他种质间的平均遗传相似系数, 表明材料 XT3 白与其他自交系间分子水平上的遗传差异较大, 分子特异性水平较高。

### 2.3 种质间聚类结果

根据各薏苡种质间的 SSR 遗传相似系数矩阵, 利用 UPGMA 法进行聚类分析, 22 份薏苡种质共聚成 4 类 (以  $G_s$  值 0.808 为标准)。其中第 I 类只有 WC1 白; 第 II 类包括 YL1 黑、WC2 黑、PY1 白、WCH 白、GX1 黑、XY1 黑、XT1 白、WC1 黑、YL1 白、WC2 白、WCH 黑、XT1 黑、XT3 黑、薏仁米测、XT2 黑、PY1 黑、XY1 白和 GX1 白; 第 III 类包括 XT2 白和薏 2006489; 第 IV 类只含有 XT3 白 (图 2、表 4)。

由图 2 及表 4 可以看出, 第 II 类和第 III 类种质之间遗传关系较近, 而第 I 类和第 IV 类与其他各自交系之间遗传关系较远; 22 份薏苡种质中, 材料 XT3 白与其他薏苡种质之间的遗传关系最远。

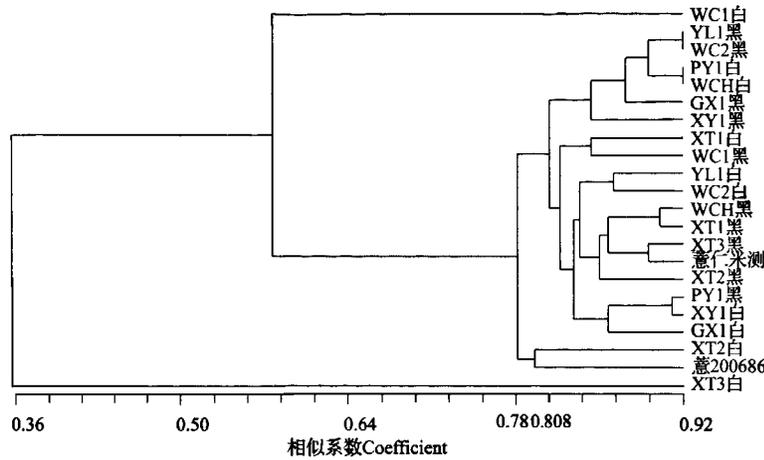


图2 SSR 聚类图

Fig.2 Clustering map of SSR markers

表4 SSR 标记聚类结果

Table 4 Results of clustering analysis with SSR markers

类群编号 Group No.	种质 Germplasm
I	WC1 白
II	YLI 黑、WC2 黑、PY1 白、WCH 白、 GX1 黑、XY1 黑、XT 白、WC1 黑、YLI 白、 WC2 白、WCH 黑、XT1 黑、XT3 黑、薏仁米 测、XT2 黑、PY1 黑、XY1 白及 GX1 白
III	XT2 白和薏 2006489
IV	XT3 白

### 3 讨论

本研究用 11 对 SSR 引物将 22 份薏苡种质基本分开,并较好地反映了供试材料的亲缘关系,也进一步证明 SSR 标记是鉴定薏苡种质资源亲缘关系的一条有效途径。所选用的 22 份材料的遗传相似系数在 0.3048 ~ 0.9238,平均为 0.7799。说明多数材料间具有一定的遗传差异,但总体供试材料遗传基础相对比较狭窄,这可能与选材范围不够广泛及核心 SSR 引物的筛选有关。因此,在薏苡育种中利用好现有的优良种质资源,广泛收集和创造新的种质资源,挖掘其优良基因,扩大我国薏苡育种的资源基因库,对进一步提高我国现有薏苡品种是非常重要的。进一步筛选其核心 SSR 引物,使其能准确地反映出薏苡种质间的遗传变异关系。

贵州的喀斯特地形使各地气候、地理生态条件复杂化,所以在今后薏苡育种中要实现创新和突破,应在此研究基础上选取代表性的材料与供试材料杂交组配,采用 NC-II 设计试验,进一步对其杂交后代的性状进行田间比较分析,再结合田间表现与分子标记的聚类结果进行比较,从而更为客观、合理地

对薏苡种质进行杂种优势群的划分。

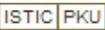
### 参考文献

- [1] 回瑞华,侯冬岩. 薏米中营养成分的分析[J]. 食品科学,2005(8):375-377
- [2] 雷正杰,张忠义,王鹏,等. 薏苡仁油脂脂肪酸组成分析[J]. 中药材,1999(8):405
- [3] 赵晓红. 薏米的营养、医用价值及制作饮料的发展前景[J]. 山西食品工业,2002(3):35-36
- [4] 徐梓辉,周世文. 薏苡仁多糖的分离提取及其降血糖作用的研究[J]. 第三军医大学学报,2000(6):578-581
- [5] 陈建白. 薏米的开发利用[J]. 云南热作科技,1999(2):18-19
- [6] 吴雪辉,何淑华,谢炜琴. 薏米淀粉的颗粒结构与性质研究[J]. 中国粮油学报,2004(3):35-37
- [7] 李晶. 薏米乳酸饮料的研究[J]. 中国乳业,2004(10):39-41
- [8] Smith J S C,Chine C L,Sh U H, et al. An evaluation of the utility of SSR loci as molecular markers in maize (*Zea mays* L.); Comparisons with data from RFLPs and pedigree [J]. Theor Appl Genet,1997,95:163-173
- [9] Senior M L. Utility of SSRs for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gelsystem [J]. Crop Sci,1998,38:1088-1098
- [10] 彭忠华,龙凤,王思松,等. 不同玉米品种生态型自交系的选育及改良途径[J]. 山地农业生物学报,2003,22(6):488-492
- [11] 潘兴明,谭静,张世煌,等. 利用 SSR 标记对 29 个热带和温带玉米自交系进行杂种优势群的划分[J]. 作物学报,2003,29(6):835-840
- [12] 朱彩梅,张京. 应用 SSR 标记分析中国糯大麦种质的遗传多样性[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(1):57-64
- [13] 许洛,刘颖慧,石云素,等. 利用 SSR 标记研究不同来源的同名玉米骨干自交系的遗传同一性和遗传差异[J]. 植物遗传资源学报,2009,10(1):32-36
- [14] 孙琦,孟昭东,张发军,等. SSR 标记在玉米遗传育种中的应用[J]. 玉米科学,2006,14(1):37-39
- [15] 赵庆勇,张亚东,朱镇. 30 个粳稻品种 SSR 标记遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2010,11(2):218-223
- [16] 袁力行,傅骏骅,Warburt O N M,等. 利用 RFLP、SSR、AFLP 和 RAPD 标记分析玉米自交系遗传多样性的研究[J]. 遗传学报,2000,27(8):725-733
- [17] 李新海,傅骏骅,张世煌,等. 利用 SSR 标记研究玉米自交系的遗传变异[J]. 中国农业科学,2000,33(2):1-9
- [18] 黄素华,滕文涛,王玉娟,等. 利用 SSR 标记分析玉米轮回选择群体的遗传多样性[J]. 遗传学报,2004,31(1):73

## 基于SSR标记的贵州薏苡种质资源遗传多样性分析

作者: 郭银萍, 彭忠华, 赵致, 陈志兴, 高翔, 刘胜传, 谢云, GUO Yin-ping, PENG Zhong-hua, ZHAO Zhi  
, CHEN Zhi-xing, GAO Xiang, LIU Sheng-chuan, XIE Yun

作者单位: 郭银萍, 彭忠华, 赵致, 谢云, GUO Yin-ping, PENG Zhong-hua, ZHAO Zhi, XIE Yun(贵州大学农学院, 贵阳, 550025)  
, 陈志兴, CHEN Zhi-xing(黔西南州农业局, 兴义, 570001), 高翔, GAO Xiang(贵州省农业科学院, 贵阳, 550025)  
, 刘胜传, LIU Sheng-chuan(贵州省兴义市兴仁县烟草公司, 兴仁, 562300)

刊名: 植物遗传资源学报 

英文刊名: Journal of Plant Genetic Resources

年, 卷(期): 2012, 13(2)

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zwyczyxb201202027.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201202027.aspx)